



**Norme  
internationale**

**ISO 18184**

**Textiles — Détermination de  
l'activité virucide de produits  
textiles**

*Textiles — Determination of antiviral activity of textile products*

**Troisième édition  
2025-03**

*iteh Standards  
(<https://standards.iteh.ai>)  
Document Preview*

[ISO 18184:2025](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/899dc7c1-ffe2-43fd-8288-1cb7a041a6f3/iso-18184-2025)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/899dc7c1-ffe2-43fd-8288-1cb7a041a6f3/iso-18184-2025>

iTeh Standards  
(<https://standards.itih.ai>)  
Document Preview

[ISO 18184:2025](https://standards.itih.ai/catalog/standards/iso/899dc7c1-ffe2-43fd-8288-1cb7a041a6f3/iso-18184-2025)

<https://standards.itih.ai/catalog/standards/iso/899dc7c1-ffe2-43fd-8288-1cb7a041a6f3/iso-18184-2025>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2025

Tous droits réservés. Sauf prescription différente ou nécessité dans le contexte de sa mise en œuvre, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie, ou la diffusion sur l'internet ou sur un intranet, sans autorisation écrite préalable. Une autorisation peut être demandée à l'ISO à l'adresse ci-après ou au comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office  
Case postale 401 • Ch. de Blandonnet 8  
CH-1214 Vernier, Genève  
Tél.: +41 22 749 01 11  
E-mail: [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web: [www.iso.org](http://www.iso.org)

Publié en Suisse

<b>Sommaire</b>	<b>Page</b>
<b>Avant-propos</b> .....	<b>v</b>
<b>Introduction</b> .....	<b>vi</b>
<b>1 Domaine d'application</b> .....	<b>1</b>
<b>2 Références normatives</b> .....	<b>1</b>
<b>3 Termes et définitions</b> .....	<b>1</b>
<b>4 Principe</b> .....	<b>3</b>
<b>5 Exemple de virus et de cellule hôte</b> .....	<b>3</b>
<b>6 Avertissement</b> .....	<b>3</b>
<b>7 Appareillage</b> .....	<b>3</b>
<b>8 Stérilisation de l'appareillage</b> .....	<b>6</b>
<b>9 Réactifs et matériaux</b> .....	<b>6</b>
<b>10 Préparation</b> .....	<b>12</b>
10.1 Restauration de la cellule hôte cryoconservée .....	12
10.2 Sous-culture de cellules hôtes .....	13
10.3 Culture cellulaire pour détermination du titre infectieux d'une suspension virale .....	14
10.4 Préparation du virus à soumettre à essai .....	14
10.4.1 Généralités .....	14
10.4.2 Virus influenza .....	14
10.4.3 Calicivirus félin .....	15
10.4.4 Autres virus .....	16
10.4.5 Titre infectieux des virus soumis à essai .....	16
10.5 Préparation des éprouvettes pour essais virucides .....	17
10.5.1 Tissu témoin .....	17
10.5.2 Préparation des éprouvettes pour essais virucides .....	17
10.5.3 Stérilisation des éprouvettes témoins et des éprouvettes pour essais virucides .....	17
10.6 Essai témoin .....	18
10.6.1 Généralités .....	18
10.6.2 Vérification de la cytotoxicité par la sensibilité des cellules au virus et l'inactivation de l'activité virucide .....	18
<b>11 Mode opératoire d'essai</b> .....	<b>18</b>
11.1 Préparation des éprouvettes témoins et des éprouvettes pour essais virucides .....	18
11.2 Dépôt du virus dans les éprouvettes témoins et les éprouvettes pour essais virucides .....	19
11.3 Durée de contact .....	19
11.4 Élimination du virus immédiatement après dépôt .....	19
11.5 Élimination du virus après la durée de contact .....	19
<b>12 Préparation pour dilutions en série de la suspension virale</b> .....	<b>19</b>
<b>13 Détermination du titre infectieux</b> .....	<b>20</b>
13.1 méthode des plages de lyse .....	20
13.2 Méthode DICT <sub>50</sub> .....	20
13.3 Méthode d'essai avec des œufs de poule fécondés exempts d'agents pathogènes (SPF) .....	20
<b>14 Calcul du titre infectieux</b> .....	<b>20</b>
14.1 Méthode des plages de lyse .....	20
14.2 Méthode DICT <sub>50</sub> .....	21
14.2.1 Généralités .....	21
14.2.2 Méthode de Behrens et Kärber .....	21
14.2.3 Exemple de calcul .....	21
14.3 Résultat d'essai .....	23
14.3.1 Vérification de cet essai .....	23
14.3.2 Calcul de la valeur de l'activité virucide .....	23

15	Exemple de résultats d'essai .....	24
16	Évaluation de l'efficacité virucide .....	24
17	Rapport d'essai .....	24
Annexe A (informative)	Souches virales et cellules hôtes .....	25
Annexe B (normative)	Méthode d'essai pour le SARS-CoV-2 .....	26
Annexe C (normative)	Détermination du titre infectieux — Méthode des plages de lyse .....	36
Annexe D (normative)	Détermination du titre infectieux: Méthode DICT <sub>50</sub> — Mode opératoire d'essai .....	38
Annexe E (informative)	Composition des milieux .....	39
Annexe F (informative)	Exemples supplémentaires de virus et de cellules hôtes .....	43
Annexe G (informative)	Méthode d'essai avec des œufs de poule fécondés exempts d'agents pathogènes (SPF) .....	44
Annexe H (informative)	Efficacité virucide — Performances virucides des produits .....	49
Annexe I (informative)	Résultat des essais interlaboratoires (1) .....	50
Annexe J (informative)	Résultat des essais interlaboratoires (2) .....	52
Annexe K (informative)	Résultat des essais interlaboratoires (3) .....	55
Bibliographie .....		57

iTeh Standards  
(<https://standards.iteh.ai>)  
Document Preview

[ISO 18184:2025](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/899dc7c1-ffe2-43fd-8288-1cb7a041a6f3/iso-18184-2025)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/iso/899dc7c1-ffe2-43fd-8288-1cb7a041a6f3/iso-18184-2025>

## Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (IEC) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les procédures utilisées pour élaborer le présent document et celles destinées à sa mise à jour sont décrites dans les Directives ISO/IEC, Partie 1. Il convient, en particulier, de prendre note des différents critères d'approbation requis pour les différents types de documents ISO. Le présent document a été rédigé conformément aux règles de rédaction données dans les Directives ISO/IEC, Partie 2 (voir [www.iso.org/directives](http://www.iso.org/directives)).

L'ISO attire l'attention sur le fait que la mise en application du présent document peut entraîner l'utilisation d'un ou de plusieurs brevets. L'ISO ne prend pas position quant à la preuve, à la validité et à l'applicabilité de tout droit de brevet revendiqué à cet égard. À la date de publication du présent document, l'ISO n'avait pas reçu notification qu'un ou plusieurs brevets pouvaient être nécessaires à sa mise en application. Toutefois, il y a lieu d'avertir les responsables de la mise en application du présent document que des informations plus récentes sont susceptibles de figurer dans la base de données de brevets, disponible à l'adresse [www.iso.org/brevets](http://www.iso.org/brevets). L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié tout ou partie de tels droits de propriété.

Les appellations commerciales éventuellement mentionnées dans le présent document sont données pour information, par souci de commodité, à l'intention des utilisateurs et ne sauraient constituer un engagement.

Pour une explication de la nature volontaire des normes, la signification des termes et expressions spécifiques de l'ISO liés à l'évaluation de la conformité, ou pour toute information au sujet de l'adhésion de l'ISO aux principes de l'Organisation mondiale du commerce (OMC) concernant les obstacles techniques au commerce (OTC), voir [www.iso.org/avant-propos](http://www.iso.org/avant-propos).

Le présent document a été élaboré par le comité technique ISO/TC 38, *Textiles*.

Cette troisième édition annule et remplace la deuxième édition (ISO 18184:2019), qui a fait l'objet d'une révision technique.

Les principales modifications sont les suivantes:

- en [14.3.2](#), le calcul de l'activité virucide a été mis à jour;
- une nouvelle [Annexe B](#) a été ajoutée pour la méthode d'essai avec le SARS-CoV-2, et les annexes suivantes ont été déplacées;
- à l'[Annexe E](#), l'[Article E.4](#) a été ajouté pour la composition du milieu DMEM;
- une nouvelle [Annexe F](#) a été ajoutée pour donner des exemples supplémentaires de souches virales et de cellules hôtes.

Il convient que l'utilisateur adresse tout retour d'information ou toute question concernant le présent document à l'organisme national de normalisation de son pays. Une liste exhaustive desdits organismes se trouve à l'adresse [www.iso.org/fr/members.html](http://www.iso.org/fr/members.html).

## Introduction

Au cours de ces dernières années, le niveau de vie de la population mondiale a connu une nette amélioration et les consommateurs tendent aujourd'hui à rechercher des produits de soin ou de protection de la santé. Cette tendance s'accompagne d'un intérêt accru de la population pour la protection contre des maladies épidémiques, notamment dans les trains de banlieue bondés que les voyageurs empruntent quotidiennement, dans les hôpitaux, dans les maisons médicalisées, etc.

Grâce à la récente accélération du développement de techniques ultra performantes pour le traitement des produits textiles, les produits d'hygiène et de protection de la santé occupent une place de plus en plus importante sur le marché.

Ces produits relativement nouveaux ont bénéficié des avancées techniques réalisées dans le domaine des technologies textiles et les fabricants ont individuellement développé des méthodes d'essai afin d'évaluer les performances des produits. Cependant, aucune méthode d'essai unifiée n'a été élaborée et les consommateurs et les fabricants ne disposent à ce jour d'aucune information claire sur ces produits hautement fonctionnels.

Les produits textiles à propriétés virucides figurent parmi ces produits et intègrent les domaines techniques des technologies textiles et des biotechnologies.

Dans ce contexte, la nécessité d'élaborer une Norme internationale s'impose aux consommateurs, distributeurs, fabricants ou autres intervenants, en tant que parties prenantes de ce marché.

Les produits textiles à propriétés virucides sont des textiles capables de réduire le nombre de virus infectieux qui entrent en contact avec leur surface. Le présent document établit une méthode d'essai quantitative permettant d'évaluer les performances virucides de ces produits.

Les données objectives obtenues grâce au présent document permettent à tous les acteurs (consommateurs, fabricants, distributeurs, etc.) de déterminer de manière correcte la performance des produits textiles à propriétés virucides.

Deux méthodes permettent de quantifier le nombre de virus infectieux (titre infectieux dans le présent document): la méthode directe des plages de lyse et la méthode DICT<sub>50</sub>. La méthode utilisée peut être choisie en fonction de l'expertise et des capacités techniques de chaque centre d'essai. Tout système cellulaire approprié peut être utilisé et il convient de consigner les conditions d'essai dans le rapport d'essai.

Voir les [Annexes I, J et K](#) pour les résultats des essais interlaboratoires.

# Textiles — Détermination de l'activité virucide de produits textiles

**AVERTISSEMENT** — Le présent document nécessite l'utilisation de virus infectieux ou de substances et/ou modes opératoires qui peuvent être préjudiciables à la santé et à l'environnement si les conditions appropriées ne sont pas respectées. Elle se réfère uniquement à l'aptitude technique et ne dispense nullement l'utilisateur de satisfaire, à tout moment, aux obligations légales en matière de santé, de sécurité et d'environnement.

## 1 Domaine d'application

Le présent document spécifie des méthodes d'essai permettant d'évaluer l'activité virucide des produits textiles.

Les produits textiles incluent les étoffes tissées et tricotées ainsi que les étoffes non tissées, le coton, les fibres, les fils, les tresses, les plumes, etc.

## 2 Références normatives

Les documents suivants sont cités dans le texte de sorte qu'ils constituent, pour tout ou partie de leur contenu, des exigences du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition du document de référence s'applique (y compris les éventuels amendements).

ISO 105-F02, *Textiles — Essais de solidité des teintures — Partie F02: Spécifications pour les tissus témoins en coton et en viscose*

ISO 3696, *Eau pour laboratoire à usage analytique — Spécification et méthodes d'essai*

ISO 20743:2021, *Textiles — Détermination de l'activité antibactérienne des produits textiles*

## 3 Termes et définitions

Pour les besoins du présent document, les termes et définitions suivants s'appliquent.

L'ISO et l'IEC tiennent à jour des bases de données terminologiques destinées à être utilisées en normalisation, consultables aux adresses suivantes:

- ISO Online browsing platform: disponible à l'adresse <https://www.iso.org/obp>
- IEC Electropedia: disponible à l'adresse <https://www.electropedia.org/>

### 3.1

#### **virus**

entité biologique originale qui possède un unique type d'acide nucléique (ADN ou ARN), une structure spécifique qui oppose le virus aux organismes vivants possédant une structure cellulaire (procaryotes et eucaryotes) et qui se reproduit par réplication à partir de son matériel génétique à l'intérieur de la cellule hôte pour conduire à un parasitisme intracellulaire absolu

Note 1 à l'article: La particule virale infectieuse est appelée virion.

### 3.2

#### **activité virale**

capacité d'un virus à se répliquer dans les cellules hôtes sensibles et permissives

### 3.3

#### **activité virucide**

propriété de toute substance (chimique ou non) entraînant une modification d'un des éléments de la structure du virion qui induit l'incapacité de ce dernier à se répliquer

Note 1 à l'article: Il s'agit d'une propriété qui réduit l'activité virale, généralement par une modification morphologique ou une altération structurale de la surface protéique du virus.

Note 2 à l'article: La modification de la réponse antigénique ou la modification d'un élément constitutif n'implique pas nécessairement une diminution de la virulence d'un virus.

### 3.4

#### **substances chimiques virucides**

substances chimiques inorganiques ou organiques capables de réduire l'*activité virale* ([3.2](#))

Note 1 à l'article: Les substances chimiques virucides organiques modifient la surface protéique du virus par adsorption chimique. Les substances virucides métalliques inorganiques détruisent ou modifient la morphologie du virus par arrachement d'un atome d'hydrogène de la protéine virale, grâce à des radicaux OH générés par réaction radicalaire.

### 3.5

#### **tissu témoin**

tissu utilisé pour vérifier la stabilité du virus soumis à essai sur une étoffe textile

Note 1 à l'article: Il convient d'utiliser les tissus avant traitement virucide comme tissu témoin dans les mêmes conditions que celles décrites en [3.5](#).

Note 2 à l'article: Lorsque les tissus avant traitement virucide ne sont pas utilisables, dans la Note 1 à l'article, il convient d'utiliser le tissu 100 % coton décrit dans l'ISO 105-F02 sans traitement chimique (blanchiment optique, etc.).

### 3.6

#### **essai témoin**

essai destiné à vérifier qu'une éprouvette n'a aucune influence sur la cellule hôte

Note 1 à l'article: Cet essai est effectué dans les mêmes conditions que l'essai réel, mais sans le virus.

### 3.7

#### **effet cytopathogène effet cytopathogène (ECP) du virus**

effet qui se manifeste sous la forme d'une altération morphologique ou d'une destruction des cellules hôtes provoquée par la multiplication des virus

### 3.8

#### **titre infectieux du virus**

nombre de particules virales infectieuses présent par unité de volume dans un lysat cellulaire ou dans une suspension virale

### 3.9

#### **plage de lyse**

surface de cellules lysées dans une culture cellulaire monocouche

### 3.10

#### **unité formant plage**

##### **UFP**

unité exprimée en concentration de virus infectieux par unité de volume

### 3.11

#### **méthode des plages de lyse**

méthode destinée à déterminer le *titre infectieux du virus* ([3.8](#)) à partir du nombre d'UFP en utilisant des dilutions successives



### 3.12

#### **DICT<sub>50</sub>**

dose infectieuse à 50 % d'une suspension virale de rinçage ou d'une dilution de suspension virale qui induit un ECP dans 50 % des cultures cellulaires

Note 1 à l'article: Voir [3.7](#).

### 3.13

#### **méthode DICT<sub>50</sub>**

méthode destinée à déterminer le *titre infectieux du virus* ([3.8](#)) à partir de la DICT<sub>50</sub> en utilisant des dilutions successives

### 3.14

#### **cytotoxicité**

altération morphologique des cellules et/ou leur destruction ou la réduction de leur sensibilité à la multiplication de virus induite par un produit

### 3.15

#### **produit textile à propriétés virucides**

étoffe traitée avec des substances chimiques virucides

## 4 Principe

Les virus sont déposés sur une éprouvette pour essais virucides et une éprouvette témoin. Une fois le temps de contact écoulé, la quantité restante du virus infectieux est déterminée et le taux de réduction est calculé en comparant l'éprouvette pour essais virucides et l'éprouvette témoin sur une échelle logarithmique décimale. Deux méthodes permettent de quantifier le titre infectieux d'un virus. La première est la méthode des plages de lyse et l'autre la méthode DICT<sub>50</sub>. Le choix de la méthode est fonction de l'expertise et des capacités du centre d'essai.

En raison des différences de sensibilité, les résultats obtenus avec un virus d'essai ne peuvent pas être transposés à d'autres virus.

## 5 Exemple de virus et de cellule hôte

L'[Annexe A](#), l'[Annexe B](#) et l'[Annexe F](#) donnent des exemples d'espèces virales et de cellules hôtes.

Il est possible d'employer d'autres espèces virales et d'autres cellules hôtes après validation appropriées car le virus important peut changer en fonction de l'application cible. Si d'autres espèces sont utilisées, le nom de l'espèce et la raison spécifique de son utilisation doivent être consignés dans le rapport d'essai.

NOTE La liste des virus de référence est donnée dans l'EN 14476 et dans l'EN 14675.

## 6 Avertissement

La manipulation de virus et de cellules hôtes potentiellement dangereux nécessite un haut degré de compétence technique et peut être soumise à la législation et aux réglementations nationales en vigueur. Il convient de prendre les précautions de sécurité appropriées en tenant compte des réglementations spécifiques au pays. Il convient que seul un personnel formé aux techniques biologiques réalise de tels essais. Les pratiques appropriées en matière de désinfection, de stérilisation et d'hygiène personnelle doivent être strictement respectées.

## 7 Appareillage

**7.1 Stérilisateur sous vapeur à haute pression**, tel qu'un autoclave, capable de fonctionner à une température de  $(121 \pm 2)$  °C, conformément à l'ISO 20743:2021, 5.28.

## ISO 18184:2025(fr)

**7.2 Stérilisateur à chaleur sèche**, tel que des fours, capables de fonctionner à des températures de  $(180 \pm 2)$  °C et de  $(160 \pm 2)$  °C.

**7.3 Fiole jaugée** d'une capacité de 1 l.

**7.4 Balance** offrant une plage de mesure de 0,01 g à 100 g avec une précision de 1,0 % conformément à l'ISO 20743:2021, 5.13.

**7.5 Pipettes** de différents volumes avec une précision de 10 % du volume nominal.

**7.6 Machine à laver.**

**7.7 Pipeteur** capable de recevoir les pipettes en verre ou en plastique.

**7.8 Micropipette** de volume parfaitement adapté à chaque utilisation, à extrémité en verre ou en plastique, avec une tolérance inférieure ou égale à 0,5 %.

**7.9 Bain-marie** capable de maintenir des températures de  $(37 \pm 1)$  °C,  $(50 \pm 1)$  °C et  $(56 \pm 1)$  °C.

**7.10 Agitateur** produisant une agitation de type vortex conformément à l'ISO 20743:2021, 5.4.

**7.11 Congélateur** réglable à une température de  $(-80 \pm 2)$  °C ou  $(-20 \pm 2)$  °C.

**7.12 Bain d'azote liquide** pour la conservation à  $-196$  °C environ.

**7.13 Appareil de filtration sur membrane** avec un diamètre de pore de 0,22 µm.

**7.14 Réfrigérateur** réglable à une température comprise entre 2 °C et 8 °C.

**7.15 pH-mètre** avec incertitude d'étalonnage  $\pm 0,1$  unité de pH à  $(20 \pm 1)$  °C conformément à l'ISO 20743.

**7.16 Microscope inversé** pour l'observation des cultures cellulaires.

**7.17 Pincés stérilisables.**

**7.18 Centrifugeuse** réglable à une température de  $(4 \pm 2)$  °C et générant une force centrifuge relative d'environ 1 000 g.

**7.19 Poste de sécurité biologique** de classe II.

**7.20 Flacon** d'une capacité de 30 ml avec bouchon à vis. Le joint est en tétrafluoroéthylène ou en silicone, et le bouchon en polypropylène.

**7.21 Microplaque à 96 puits à stérilisation par rayonnement gamma** pour la méthode  $DICT_{50}$ .

Des microplaques à 96 puits avec d'autres traitements de stérilisation peuvent être utilisées après validation appropriée de la croissance cellulaire. Voir [Figure 1](#).

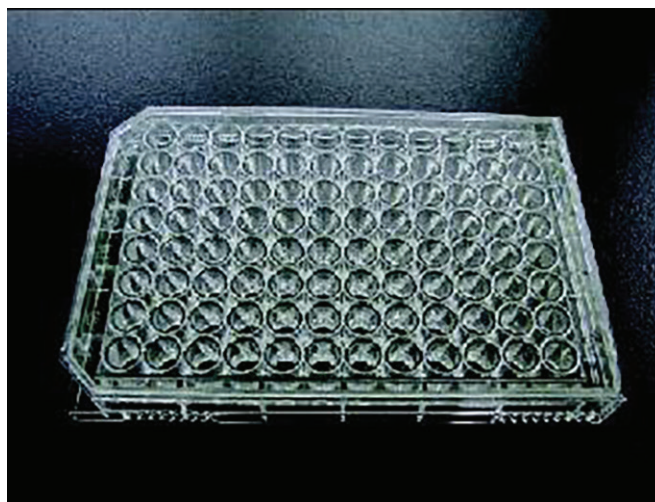


Figure 1 — Microplaque à 96 puits pour la méthode DICT<sub>50</sub>

**7.22 Plaque en plastique à 6 puits à stérilisation par rayonnement gamma pour la méthode des plages de lyse.**

Des plaques à 6 puits avec d'autres traitements de stérilisation peuvent être utilisées après validation appropriée de la croissance cellulaire. Voir [Figure 2](#).



Figure 2 — Plaque en plastique à 6 puits pour la méthode des plages de lyse

**7.23 Fiole** pour la culture cellulaire, stérilisée aux rayonnements gamma, traitée pour faciliter l'adhérence cellulaire, avec une zone de culture cellulaire de 75 cm<sup>2</sup> et un bouchon d'aération. Le bouchon d'aération peut laisser passer de l'air bactérien par un filtre à pores de 0,2 µm. Voir [Figure 3](#).

Une fiole avec d'autres traitements de stérilisation peut être utilisée après validation appropriée de la croissance cellulaire.



Figure 3 — Fiole pour culture cellulaire

7.24 **Incubateur à CO<sub>2</sub>** capable de maintenir une atmosphère contenant 5 % de CO<sub>2</sub> à une température de  $(34 \pm 1)$  °C et de  $(37 \pm 1)$  °C.

7.25 **Incubateur** capable de maintenir une température de  $(25 \pm 1)$  °C,  $(35 \pm 1)$  °C et  $(37 \pm 1)$  °C.

7.26 **Tube à centrifuger.**

7.27 **Boîte de culture cellulaire.**

7.28 **Tube à essai.**

7.29 **Bécher.**

7.30 **Tige de verre** d'environ 18 mm de diamètre.

7.31 **Agitateur** produisant une action de rotation par une barre d'agitation avec un champ magnétique rotatif.

## 8 Stérilisation de l'appareillage

Stériliser tous les équipements destinés à entrer en contact avec les cellules, les substances chimiques ou les éprouvettes. La stérilisation doit être effectuée à la vapeur d'eau ou par chaleur sèche.

- Stérilisation à la vapeur d'eau: en autoclave (7.1) à une température de 121 °C et une pression de 103 kPa pendant 15 min.
- Stérilisation par chaleur sèche: en stérilisateur à chaleur sèche (7.2) à une température de 180 °C pendant 30 min ou à 160 °C pendant 2 h.

Pour les produits en plastique, des articles résistants à la chaleur ou stérilisés peuvent être utilisés.

## 9 Réactifs et matériaux

Tous les réactifs doivent être d'une qualité adaptée aux besoins virologiques, c'est-à-dire sans substance toxique pour les essais microbiens. Certains milieux de culture sont disponibles dans le commerce.

**9.1 Eau** qui doit être de qualité analytique pour la préparation de milieux de culture microbiologiques, qui est fraîchement distillée ou traitée par échange d'ions, par ultrafiltration ou par osmose inverse ou toute combinaison de ces méthodes, ou eau de qualité 3 conformément à l'ISO 3696.

**9.2 Milieu minimum essentiel de Eagle (EMEM) ou milieu du Roswell Park Memorial Institute (RPMI)**, disponible dans le commerce. La composition de ce milieu est décrite à l'[Annexe E](#). Si des composants du milieu sont manquants, les ajouter conformément au tableau présentant la composition.

### 9.3 Solution de bicarbonate de sodium

Préparer la solution à 7,5 % conformément à la méthode 1 ou à la méthode 2 et bien mélanger juste avant utilisation.

#### 9.3.1 Méthode 1

**9.3.1.1** Stériliser à l'autoclave 75 g de bicarbonate de sodium dans une boîte de culture cellulaire ([7.27](#)) fermée par un bouchon étanche.

**9.3.1.2** Stériliser également l'eau ([9.1](#)) à l'autoclave.

**9.3.1.3** Dissoudre correctement le bicarbonate de sodium dans 1 000 ml d'eau stérilisée ([9.3.1.2](#)).

#### 9.3.2 Méthode 2

**9.3.2.1** Préparer la solution de bicarbonate de sodium à 7,5 % par dissolution de 75 g de bicarbonate de sodium dans 1 000 ml d'eau ([9.1](#)).

**9.3.2.2** Stériliser la solution par filtration sur membrane de 0,22 µm ([7.13](#)).

### 9.4 Solution de formaldéhyde

Préparer une solution aqueuse de formaldéhyde à 3,7 % comme suit.

**9.4.1** Préparer 100 ml d'une solution de formaldéhyde à 37 %.

**9.4.2** Ajouter 900 ml d'eau ([9.1](#)) dans la solution de [9.4.1](#).

L'autre solution de fixation cellulaire peut être utilisée après validation appropriée de la fixation cellulaire.

### 9.5 Solution de bleu de méthylène

**9.5.1** Préparer une fiole jaugée ([7.3](#)) de 1 l puis y ajouter les substances suivantes:

- eau ([9.1](#)), 1 000 ml;
- bleu de méthylène, 0,375 g;
- solution d'hydroxyde de sodium à 1 mol/l, 62,5 µl.

**9.5.2** Dissoudre et bien mélanger.

### 9.6 Sérum de veau foetal (SVF) inactivé

**9.6.1** Plonger le sérum de veau foetal congelé cryoconservé, encore dans son emballage, dans un bain-marie ([7.9](#)) maintenu à 37 °C, jusqu'à décongélation.

9.6.2 Relever ensuite la température du bain-marie à 56 °C et maintenir pendant 30 min pour inactiver.

9.6.3 Répartir le sérum dans plusieurs tubes. Placer les tubes dans le congélateur (7.11) à une température inférieure à -20 °C jusqu'à l'utilisation pour les essais.

9.6.4 Juste avant utilisation, placer le sérum dans un bain-marie à 37 °C et l'y maintenir jusqu'à décongélation.

## 9.7 Milieu de croissance

### 9.7.1 Virus influenza et calicivirus félin

9.7.1.1 Préparer une fiole jaugée (7.3) de 1 l puis y ajouter les substances suivantes:

- eau (9.1), 800 ml;
- sulfate de kanamycine, 60 mg;
- milieu minimum essentiel d'Eagle (EMEM) (E.2), 9,53 g, ou milieu RPMI 1640 (E.3), 10,4 g.

9.7.1.2 Dissoudre et bien mélanger, puis compléter le volume total de la solution à 1 000 ml avec de l'eau (9.1).

9.7.1.3 Stériliser la solution mélangée de 9.7.2 à l'aide d'un filtre (7.13).

9.7.1.4 Ajouter 15 ml de solution de bicarbonate de sodium à 7,5 % (9.3) et 100 ml de sérum de veau foetal inactivé (9.6) à la solution de 9.7.1.3.

### 9.7.2 Autres virus

Dans le cas du SARS-CoV-2, préparer le milieu de croissance conformément à l'Annexe B. Dans le cas d'un autre exemple de virus décrit à l'Annexe F, sélectionner le milieu de croissance approprié pour les cellules hôtes de chaque virus.

## 9.8 Milieu de conservation

### 9.8.1 Virus influenza et calicivirus félin

9.8.1.1 Préparer une fiole jaugée (7.3) de 1 l puis y ajouter les substances suivantes:

- eau (9.1), 800 ml;
- sulfate de kanamycine, 60 mg;
- milieu minimum essentiel d'Eagle, 9,53 g.

9.8.1.2 Bien dissoudre les différents composants, puis compléter le volume total de la solution à 1 000 ml avec de l'eau (9.1).

9.8.1.3 Stériliser la solution mélangée de 9.8.1.2 à l'aide d'un filtre 0,22 µm (7.13).

9.8.1.4 Ajouter 15 ml de solution de bicarbonate de sodium à 7,5 % (9.3) à la solution mélangée de 9.8.1.3.